

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

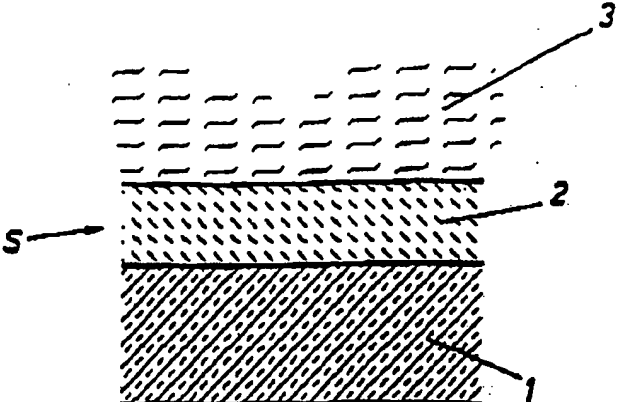
**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : G01N 31/22, 21/80		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/07483 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 15. April 1993 (15.04.93)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP92/02245 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. September 1992 (29.09.92) (30) Prioritätsdaten: A 1961/91 30. September 1991 (30.09.91) AT (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Str. 250, Postfach 4119, D-6100 Darmstadt (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : WOLFBEIS, Otto [AT/AT]; Steyrer Gasse 17, A-8010 Graz (AT). (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, SE).			Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
(54) Title: SENSOR MEMBRANE FOR DISPLAYING THE pH-VALUE OF A SAMPLE, METHOD OF MANUFACTURING THE MEMBRANE, AND ITS USE (54) Bezeichnung: SENSORMEMBRAN ZUR ANZEIGE DES pH-WERTES EINER PROBE, IHRE HERSTELLUNG UND VERWENDUNG			
			
(57) Abstract <p>In order to provide a reversible optical display of the pH-value of a sample, the invention proposes that a hydrophilic layer is disposed on a mechanically stable hydrophobic substrate, the hydrophilic layer holding the actual indicator dye in immobilized form. This gives a sensor membrane which is simple and inexpensive to manufacture, has a short response time and can be mass-produced as a disposable product.</p>			
(57) Zusammenfassung <p>Zur reversiblen optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe wird auf einem hydrophoben, mechanisch stabilen Trägerelement eine hydrophile Aufnahmeschicht angeordnet, die den eigentlichen Indikator-Farbstoff in immobilisierter Form aufweist. Es entsteht damit eine einfach herstellbare und kostengünstige Sensormembran, die eine schnelle Ansprechzeit besitzt und auch zur Einmal-Verwendung als Massenprodukt herstellbar ist.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NL	Niederlande
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NZ	Neuseeland
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	PT	Portugal
BR	Brasilien	IE	Irland	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SK	Slowakische Republik
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SU	Sowjet Union
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CZ	Tschechische Republik	MC	Monaco	TC	Togo
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	UA	Ukraine
DK	Dänemark	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam

5 **Sensormembran zur Anzeige des pH-Wertes einer Probe,
ihre Herstellung und Verwendung**

Die Erfindung betrifft eine Sensormembran zur reversiblen
optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe, mit einem mecha-
10 nisch stabilen Trägerelement und einer darauf angebrachten
Indikator-Farbstoffschicht. Ferner betrifft die Erfindung ein
Verfahren zur Herstellung einer Sensormembran zur reversiblen
optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe, wobei auf ein
mechanisch stabiles Trägerelement eine Schicht aus Indikator-
15 Farbstoff aufgebracht wird. Schließlich bezieht sich die Er-
findung auch auf die Verwendung einer derartigen Sensormem-
bran.

Die optische Messung von pH-Werten geht zurück auf den Be-
20 fund, daß gewisse Farbstoffe (wie zum Beispiel Lackmus) auf
den pH-Wert einer Probe mit einer Änderung der Farbe reagie-
ren und somit den pH-Wert einer Probe anzuzeigen in der Lage
sind. Eine Auswahl von geeigneten Farbstoffen (Indikatoren)
samt der pH-Bereiche, innerhalb derer sie umschlagen, findet
25 sich z.B. in "Indicators", E. Bishop, Pergamon Press, 1972,
Kapitel 3.

Die ersten pH-sensitiven Streifenmaterialien wurden durch
Eintauchen eines Papierstreifens in eine Farbstofflösung
30 gewonnen. Der Farbstoff ist in solchen Farbstreifen durch

Absorption an den Träger gebunden. Dies hat den Nachteil, daß der Farbstoff durch die Probe ausgewaschen werden kann und macht solche Streifen für sensorische (on-line) Anwendungen ungeeignet, da das optisch abgetastete Signal durch Auswaschen, und nicht durch pH-Änderungen, immer schwächer wird.

Durch chemische oder physikalische Immobilisierung von Farbstoffen kann das Auswaschen verhindert werden. Immobilisierte pH-sensitive Materialien sind somit zur kontinuierlichen Messung von pH-Werten geeignet. Verfahren zur Immobilisierung von pH-Indikatoren auf festen Trägern (Cellulose, Agarose, Poly(methylacrylate), Polyacrylamid, Glas) sind aus dem Stand der Technik bekannt.

Methoden und Anordnungen zur kontinuierlichen optischen Messung von pH-Werten sind in der Literatur beschrieben worden. In EP 137.157 und US 4.548.907 wird ein pH-Sensor beschrieben, in welchem ein pH-Indikator auf eine Membran immobilisiert wird und die Änderungen der Fluoreszenzintensität mit dem pH-Wert über einen Lichtleiter abgefragt werden. Eine ebenfalls faseroptische Anordnung, welche auf dem Prinzip der Lichtreflexion beruht, wurde in US 4.200.110 und 4.476.870 beschrieben. Auch in US 4.166.804 wird die Immobilisierung eines Farbstoffs und die Verwendung des entstehenden Materials zur kontinuierlichen Messung von pH-Werten beschrieben. In US 4.716.118 wird die Immobilisierung von pH-Indikatoren beschrieben sowie die Messung der Ionenstärke einer Lösung über eine genaue Messung des pH-Wertes. Ein ähnliches, in US 4.376.827 beschriebenes Verfahren, erlaubt die Bestimmung der Ionenstärke mit Hilfe eines Teststreifens.

Weitere optische pH-Meßverfahren finden sich in US 4.473.650, 4.318.709 und 4.532.216. In US 4.568.518 wird eine pH-sensitive fluoreszierende Cellulosemembran mit einem Indikator beschrieben, der an ein inter-penetrierendes Netzwerk von Poly(ethylenimin) gebunden ist. Schließlich wird in EP-A 126.600 ein optischer Sensor beschrieben, in welchem der Indikator gebunden an Ionenaustauscherkügelchen vorliegt, während in US 4.321.057 ganz allgemein ein faseroptischer Sensor mit einem nicht näher spezifizierten pH-sensitiven Material beschrieben wird.

In Anal. Chem. 58, 2496 (1986) wird die Verwendung eines kommerziell erhältlichen pH-Indikatorstreifens als Sensor in einem automatisierten Analysensystem beschrieben. Der Papierstreifen wird in eine Durchflußzelle eingebracht und seine Farbänderungen über einen Lichtleiter abgetastet. Die Ansprechzeit dieses Sensors beträgt 3 bis 15 Minuten, wie man den Figuren 5B und 7B der zitierten Arbeit entnehmen kann. Die Ansprechgeschwindigkeit nimmt dabei mit abnehmender Pufferkapazität beträchtlich ab. Derart lange Ansprechzeiten sind für die Praxis ungeeignet, und aus diesem Grund wird von den Autoren die sogenannte "transiente Arbeitstechnik" eingesetzt, d.h., man wartet nicht die Signalkonstanz ab, sondern mißt nach einem definierten Zeitintervall.

In Anal. Chem. 47, 348 (1975) werden wiederverwendbare, an Glas gebundene pH-Indikatoren beschrieben, während in Anal. Chem. 60, 404 (1988) ein optischer pH-Sensor beschrieben wird, welcher durch chemische Modifikation eines porösen Polymerfilms erhalten wurde. Beide Typen von Sensoren sind

sehr aufwendig in der Herstellung, erfordern eine beträchtliche Erfahrung auf dem Gebiet der Immobilisierungs-Chemie, und sind schlecht in reproduzierbarer Weise herzustellen, besonders wenn es sich um Glas als Träger handelt.

5

Ein Nachteil aller dieser Sensoren besteht, wie oben angeführt, darin, daß die Ansprechzeiten mit 1,0 bis 20 Minuten relativ lang sind, was gegenüber den kurzen Ansprechzeiten der pH-Elektroden einen beträchtlichen Nachteil bedeutet.

10

Diese Elektroden sind allerdings im Gegensatz zu den hier in Rede stehenden Membranen nicht einfach wie ein Teststreifen vor Ort einsetzbar und auch nicht als einfache und billige Wegwerfteile konzipierbar. Außerdem funktionieren pH-Elektroden nur in stark gepufferten Systemen.

15

Aus Anal. Chem. 59, 437 (1987) ist bekannt, wie man Farbstoff und Träger als extrem dünnen Film auf den Lichtleiter aufbringt, um die Ansprechzeiten zu verkürzen. Ähnliches ist aus Anal. Sci. 3, 7 (1987) bekannt.

20

Diesem Verfahren haften ein oder mehrere der folgenden Nachteile an: Sie sind aufwendig, liefern schlecht reproduzierbare Ergebnisse und liefern wegen der geringen Menge an Farbstoff, welche sich in der wenige nm dicken Schicht befindet,

25

nur ein sehr schwaches Signal, so daß nur eine schlechte Signalauflösung erreicht wird. Den käuflichen Indikatorpapieren wiederum haftet der Nachteil an, daß sie für ungepufferte Lösungen praktisch nicht geeignet sind, da die relativ große Menge an immobilisiertem Farbstoff bereits eine beträchtliche

30

Pufferkapazität darstellt. Schließlich sind diese Sensormem-

- branen auch optisch trüb, so daß sie nur in Reflexion, nicht aber in Absorption (im Durchlicht) vermessen werden können. Eine Ausnahme bilden lediglich die Methoden zur Immobilisierung auf Glas, wodurch nach der oben zitierten Methode aus
- 5 Anal. Chem. 47, 348 (1975) ein transparentes Material erhalten wird, welches aber für praktische Anwendungen wegen der Brüchigkeit und schlechten Massenfertigbarkeit von Glassensoren ungeeignet ist.
- 10 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Sensormembran der eingangs genannten Art sowie ein Verfahren zur Herstellung einer derartigen Sensormembran so zu verbessern, daß die genannten Nachteile vermieden werden und daß insbesondere eine einfache Herstellung bzw. auch Massenfertigung von
- 15 kostengünstigen und damit auch als Einmal-Sensor geeigneten Sensormembranen mit kurzer Ansprechzeit möglich wird, wobei auch eine bisher nicht mögliche Verwendung derartiger Sensormembranen in ungepufferten oder schwach gepufferten Systemen möglich werden soll.
- 20 Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Sensormembran zur reversiblen optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe, mit einem mechanisch stabilen Trägerelement und einer darauf aufgetragenen Indikator-Farbschicht, dadurch gekennzeichnet,
- 25 daß auf mindestens einer Seite des Trägerelements eine hydrophile Aufnahmeschicht angeordnet ist, welche den Indikator-Farbstoff in immobilisierter Form aufweist. Das entsprechende Verfahren zur Herstellung der Sensormembran ist erfindungsgemäß dadurch gekennzeichnet, daß auf das Trägerelement eine
- 30 hydrophile Aufnahmeschicht aufgebracht wird, in welche der

Indikator-Farbstoff eingebracht und immobilisiert wird. Dies kann vor oder nach der Aufbringung der Aufnahmeschicht auf das Trägerelement erfolgen.

5 Erfindungsgemäß wird also die Sensormembran so ausgebildet, daß man auf das Trägerelement in üblicherweise nur sehr dünner Schicht von 0,1 bis 20 μm , vorzugsweise 0,1 bis 0,5 μm , eine hydrophile zweite Aufnahmeschicht aufzieht, die den
10 eigentlichen Indikator-Farbstoff trägt bzw. aufweist. Das Trägerelement dient demnach nur als Unterlage zur mechanischen Verstärkung, während der eigentlichen Sensorfilm in extrem dünner hydrophiler Schicht aufgebracht ist.

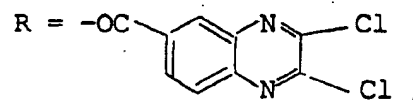
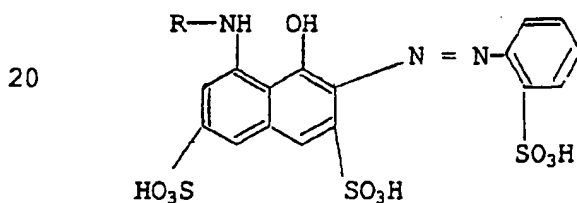
Die Aufnahmeschicht besteht gemäß einer vorteilhaften Weiterbildung der Erfindung aus Cellulose, Gelatine, Hydrogel, hydrophilen Polyvinylalkoholen oder Gemischen dieser Substanzen. Das die Aufnahmeschicht samt Indikator-Farbstoff aufweisende Trägerelement besteht gemäß der Erfindung vorzugsweise
15 aus hydrophobem, optisch transparentem Material, vorzugsweise aus der Gruppe: Polyester vom Typ der Phthalsäureester, Polycarbonate, Polyvinylchloride, Polyamide, Silicone bzw.
20 vernetzte Polyacrylamide oder Polyvinylalkohole. Besonders bevorzugt sind dabei für das Trägerelement Polyester vom Typ der Phthalsäureester und für die hydrophile Aufnahmeschicht
25 Cellulose.

Auf die hydrophile dünne Deckschicht können nun in an sich bekannter Weise die entsprechenden pH-Indikatorfarbstoffe immobilisiert werden. Alternativ kann man zuerst den Farbindikator auf die dünne hydrophile Membran immobilisieren, worauf diese auf den hydrophoben Träger aufgebracht wird.

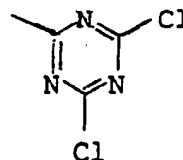
Üblicherweise werden Reaktivindikatoren eingesetzt, also solche, welche neben der pH-empfindlichen Absorption auch eine chemische Funktion (R) besitzen, mit deren Hilfe eine chemische Bindung an die hydrophobe Trägerschicht ermöglicht wird. Derart kovalent gebundene Farbstoffe (Indikatoren) lassen sich nicht mehr auswaschen.

Typische chemische Strukturen von Reaktivindikatoren sind, z.B., folgende:

a)

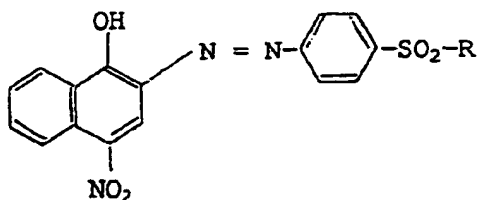


25

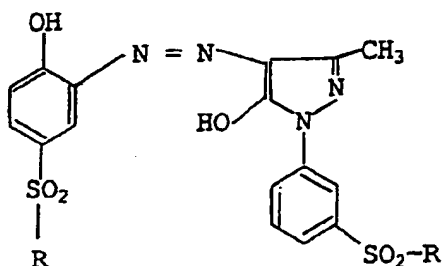


30

b)

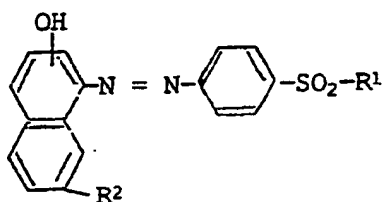


5

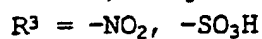
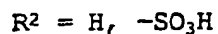
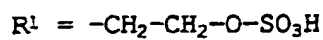


10

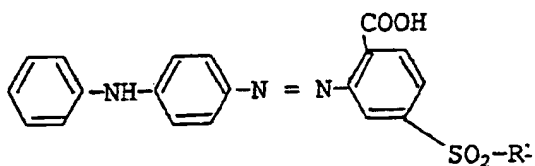
c)



15



20



25

Die so erhaltenen Sensorschichten sind im Gegensatz zu bisherigen Schichten optisch vollkommen transparent und somit einer photometrischen Absorptions-Messung ohne weiteres zugänglich. Außerdem sind sie zu geringen Kosten in großer Menge herstellbar, da die Beschichtung und Immobilisierung

30

des Farbstoffs praktisch im on-line-Betrieb erfolgen kann. Schließlich besitzen die so erhaltenen Membranen auf Grund der dünnen Indikatorschicht eine sehr geringe Pufferkapazität, was sie für Zwecke der Messung von ungepufferten
5 Lösungen (z.B. beim Nachweis des sauren Regens) sehr geeignet macht, und eine schnelle Ansprechzeit, da die Diffusion der Protonen durch die dünne hydrophile Indikatorschicht viel schneller erfolgen kann als in bisher bekannten, relativ dicken Sensorschichten.

10 In einer Ausgestaltung der Membran kann diese, wie erwähnt, auch beidseitig beschichtet sein, insbesondere wenn die Auswertung durch Absorptions- statt durch Reflexions- oder Fluoreszenzmessungen erfolgt, und wenn die Probe an beiden
15 Seiten zutreten kann.

Die Auswertung der Farbintensität der Sensormembran kann auch mit Hilfe faseroptischer oder integrierter optischer Methoden erfolgen. In diesem Fall kann die hydrophile dünne Schicht
20 direkt auf hydrophobes Lichtwellenleitermaterial aufgebracht werden. Einschlägige Anordnungen sind z.B. beschrieben im Band 1 des Buchs "Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors" von O. S. Wolfbeis, Verlag CRC Press, Boca Raton, Florida, 1991, Kapitel 2 und 3.

25 In einer anderen Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Membranen können diese auch als Referenzelemente eingesetzt werden. Dazu wird ein Teil der Membranoberfläche mit einem gas- bzw. protonen-impermeablen Material abgedeckt oder auch mit der
30 Probe überhaupt nicht in Kontakt gebracht. Man erhält so eine

Fläche, deren Farbintensität von der Probe nicht verändert wird und bei photometrischer Auswertung als Referenzelement dienen kann, dessen Signal eine Referenzmeßgröße darstellt.

5 Die erfindungsgemäßen pH-Sensoren können nicht nur zur Messung von pH-Werten verwendet werden, sondern bei geeigneter Ausgestaltung, insbesondere durch Abdecken mit gaspermeablen Schichten, zur optischen Erfassung von sauren oder alkalischen Gasen dienen, wie dies z.B. in Band 2, Kapitel 11, des
10 oben zitierten Buches beschrieben ist. Schließlich können solche Sensoren auch als Übersetzer Elemente für biochemische Reaktionen dienen, bei denen sich der pH-Wert verändert. Auch dies wurde an sich bereits beschrieben, z.B. in Anal. Chem. 60, 433 (1988) für die Bestimmung von Penicillin.

15 Die Erfindung wird im folgenden noch anhand der schematischen Zeichnungen näher erläutert. Fig. 1 zeigt den Schichtaufbau einer planaren optischen pH-sensitiven Membran im Kontakt mit dem Probenmedium. Die Aufnahmeschicht mit dem Indikator-Farbstoff ist nur an einer Seite aufgezogen. Die Fig. 2 zeigt die
20 Absorptionsspektren der sauren bzw. alkalischen Form einer erfindungsgemäßen pH-Sensormembran (Beispiel) und die Fig. 3-5 die pH-abhängigen Absorptionsänderungen der Sensormembran mit unterschiedlichen Farbstoffbelegungen. Durch Wahl verschiedener Farbstoffe kann der jeweils gewünschte pH-Bereich
25 eingestellt werden. Fig. 6 zeigt eine faseroptische Anordnung, bestehend aus einer Lichtquelle, einem Lichtleiter, der Sensormembran an der Spitze und einem Lichtleiter, welcher das gesammelte reflektierte Licht (oder Fluoreszenzlicht)
30 einem Photodetektor zuleitet. Fig. 7 zeigt das Ansprechver-

halten der Sensormembran gemäß nachfolgendem Beispiel gegenüber verschiedenen pH-Werten und Fig. 8 zeigt einen Langzeit-test mit einer derartigen Sensormembran.

5 Fig. 1 (nicht maßstabgerecht) zeigt den Querschnitt durch ein Beispiel einer erfindungsgemäßen Sensormembran S. Auf einer typischerweise etwa 200 µm dicken Polyestermembran als Trägerelement 1 befindet sich eine dünne Aufnahmeschicht 2 aus Cellulose, welche chemisch angefärbt ist. Über diese
10 Membran fließt die Probenlösung 3, welche die Farbe der Celluloseschicht bestimmt. Die Farbe kann mit Hilfe entsprechender opto-elektronischer Anordnungen abgetastet werden, unter anderem auch mit Hilfe faseroptischer Lichtwellenleiter. Um zu verhindern, daß Umgebungslicht die Messung der
15 Reflektivität oder Fluoreszenz der Membran verhindert, kann diese auch mit einer sogenannten optischen Isolierung abgedeckt sein. Dazu deckt man die Membran mit einer protonen-permeablen, aber optisch undurchlässigen dünnen Schicht ab, z.B. mit weiß pigmentiertem Hydrogel.

20 Fig. 2 zeigt die Absorptionsspektren der nach dem Beispiel erhaltenen Sensormembran bei saurem (4,00) und alkalischem (10,00) pH-Wert. Deutlich erkennbar ist, daß das Absorptionsmaximum der alkalischen Form (II) bei 595 nm gut mit der
25 Emissionswellenlänge einer gelben LED (590 nm) übereinstimmt und mit Hilfe dieser gut vermessen werden kann.

In den Fig. 3-5 dargestellt, sind die bei 565 nm gemessenen Änderungen der Absorptionsintensitäten verschiedener Membranen, welche durch Immobilisierung der als Indikator-Farbstoff
30

verwendeten Verbindungen 2-[4-(2-Hydroxy-7-sulfo-1-naphthyl-
azo)-3-nitrophenylsulfonyl]-ethylhydrogensulfat (Fig. 3),
2-[3(4-Anilinophenylazo)-4-carboxyphenylsulfonyl]-ethylhydro-
gensulfat (Fig. 4) und 2-[3-(4-Hydroxy-1-naphthylazo)-4-sul-
fophenylsulfonyl]-ethylhydrogensulfat (Fig. 5) erhalten wer-
den.

Fig. 6 zeigt eine Anordnung zur faseroptischen Messung der
Reflektivität einer erfindungsgemäßen Sensormembran. Licht
aus einer Lichtquelle L wird in einen Lichtwellenleiter LWL 1
eingekoppelt und auf die in Kontakt mit der Probe stehende
Sensormembran S gelenkt. Das von der Membran als Funktion des
pH-Wertes reflektierte Licht wird von derselben Faser wieder
aufgenommen und nach Passieren eines Faserkopplers FK über
den Lichtwellenleiter LWL 2 einem Photodetektor D zugeführt.
Dieser liefert einen Photostrom, welcher in einem Vorver-
stärker in eine Spannung umgewandelt und dann einer Ver-
stärker-, Digitalisier- und schließlich einer Auswerte-Ein-
heit zugeführt wird. Mit Hilfe dieser Anordnung sind vor
allem on-line und remote-Messungen möglich.

Fig. 7 zeigt die mit Hilfe eines faseroptischen Photometers
(entsprechend Fig. 6) gemessene Reflektivität der nach Bei-
spiel 1 erhaltenen Sensormembran bei verschiedenen pH-Werten.
Die Einstellzeiten liegen durchwegs im Bereich zwischen 10
und 30 Sekunden, mit Ausnahme des Übergangs von pH 8,02 zu
8,97, wo sie etwa 90 Sekunden beträgt.

weiter. Die nun angefärbten Membranen werden mit destilliertem Wasser solange gewaschen, bis das Waschwasser farblos bleibt. Das erhaltene Material zeigt in sauren Lösungen eine gelbe, in alkalischen Lösungen eine blaue Farbe. Der nützliche pH-Bereich liegt zwischen 6 und 9.

In Analogie zu den in Angew. Chemie, 76, 423 (1964) beschriebenen Verfahren können die genannten Farbstoffe immobilisiert werden, wodurch pH-sensitive Membranen entstehen, welche in anderen pH-Bereichen (von 8-11, 11-13 bzw. 1-5) umschlagen.

Die erfindungsgemäßen Sensormembranen finden bevorzugt Anwendung zur Bestimmung von pH-Werten mit Hilfe von Teststreifen mit photometrischer oder reflektometrischer Auswertung, zur Bestimmung des pH-Wertes sehr schwach gepufferter Lösungen (z.B. von Oberflächen- und Regenwasser) und in der Messung physiologischer pH-Werte, gegebenenfalls auch mit Hilfe faseroptischer Lichtwellenleiter.

Fig. 8 zeigt einen über 19 Stunden laufenden Langzeittest mit der Sensormembran beim ständigen Wechsel zwischen folgenden pH-Werten: 5,00, 5,50, 6,00, 6,50, 7,00, 7,50, 8,00, 8,50, 9,00, 10,00, 9,00, 8,50, 8,00, 7,50, 7,00, 6,50, 6,00, 5,50 und 5,00. Der Sensor besitzt offensichtlich eine ausgezeichnete Langzeitstabilität und gute Reproduzierbarkeit.

Das folgende Beispiel soll die Herstellung einer solchen Membran nach einem einfachen Verfahren beschreiben, ohne daß aber dadurch die Anwendungsbreite der Methode nur auf dieses spezifische Verfahren eingeschränkt wird.

Beispiel

Herstellung einer schnellansprechenden pH-Sensormembran

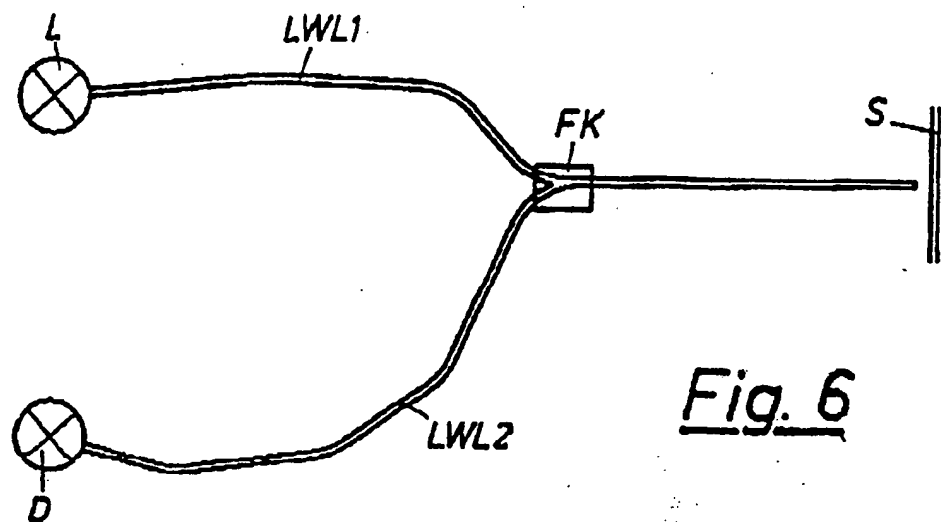
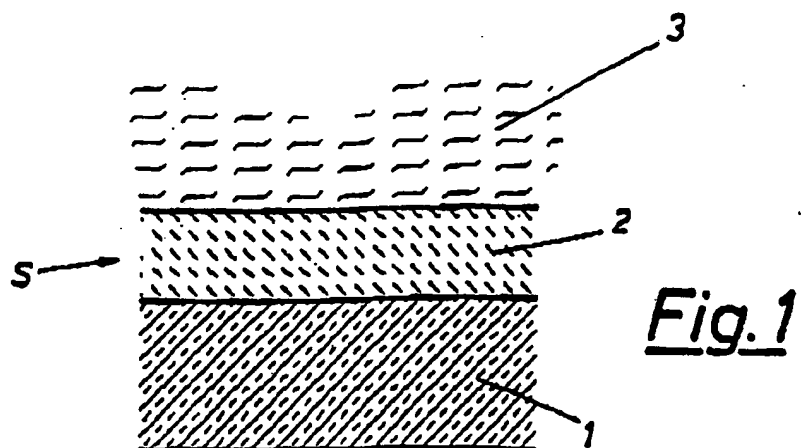
- Man löst 900 mg 2-[4-(4-Hydroxy-1-naphthylazo)-3-nitrophenylsulfonyl]-ethylhydrogensulfat in 1,0 g konzentrierter Schwefelsäure, indem man den Farbstoff vorher fein zerkleinert.
- Man läßt die Lösung anschließend 30 Minuten in einer trocknen Atmosphäre stehen. Danach gießt man in 1000 ml destilliertes Wasser und neutralisiert mit ca. 1,8 ml einer 32%igen Natronlauge, bis ein Farbumschlag nach grün eintritt.
- In diese Lösung hängt man eine cellulose-beschichtete Polyester-membran (z.B. das an sich als beschriftbare Overhead-folie vertrieben Produkt 17703T von Hewlett-Packard, Wien) und rührt die Lösung langsam um. Nach 5 Minuten fügt man 25 g feste Soda zu, nach weiteren 5 Minuten 5,2 ml der 32%igen Natronlauge. Man läßt noch eine Stunde stehen und rührt

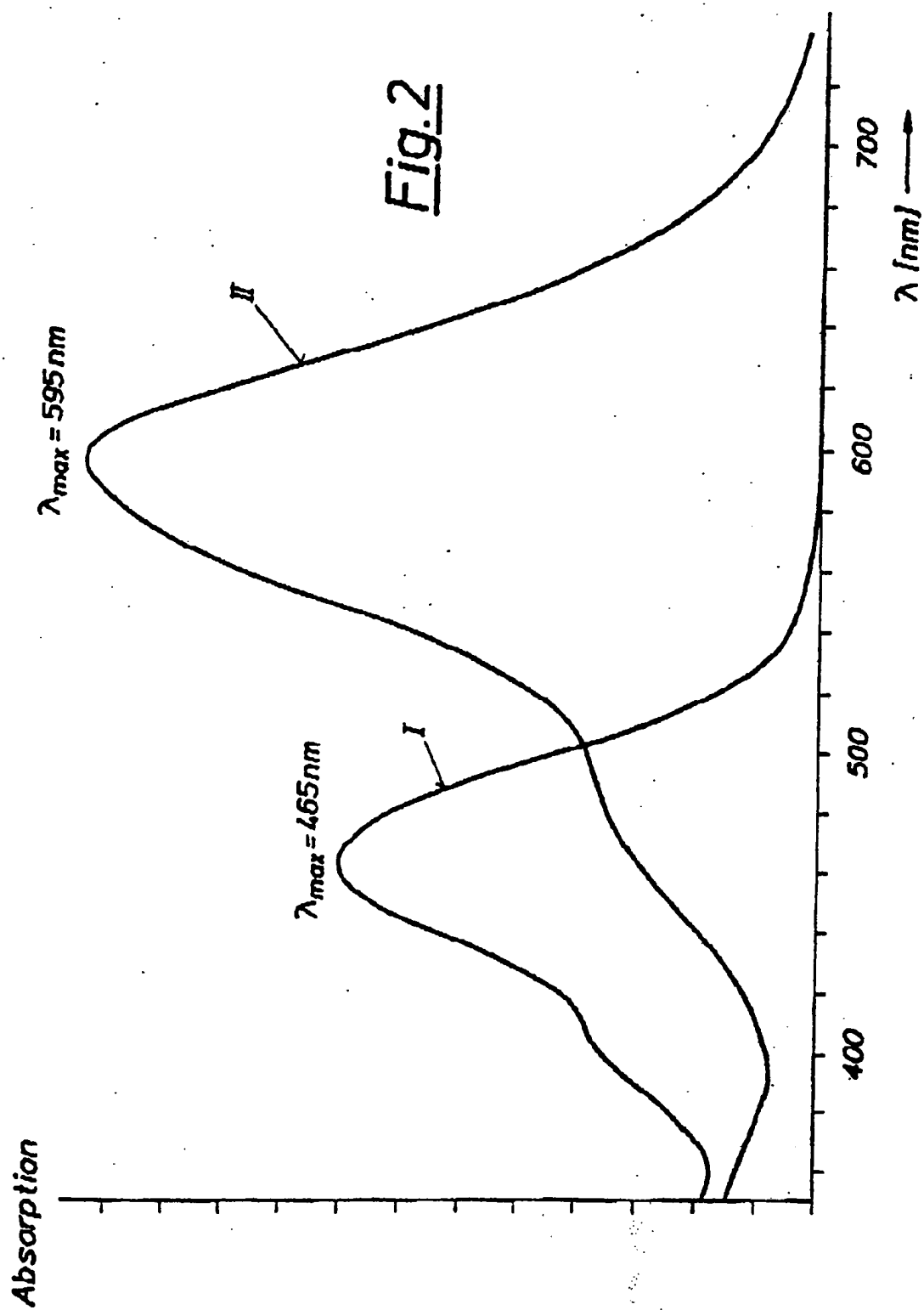
5. Verfahren zur Herstellung einer Sensormembran zur reversiblen optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe, wobei auf ein mechanisch stabiles Trägerelement eine Schicht aus Indikator-Farbstoff aufgebracht wird, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß auf das Trägerelement eine hydrophile Aufnahmeschicht aufgebracht wird, in welche der Indikator-Farbstoff eingebracht und immobilisiert wird.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Trägerelement hydrophobes, optisch transparentes Material verwendet wird.
7. Verwendung einer Sensormembran nach einem der Ansprüche 1 bis 4 als Teststreifen zur pH-Bestimmung in ungepufferten oder schwach gepufferten Systemen.

5

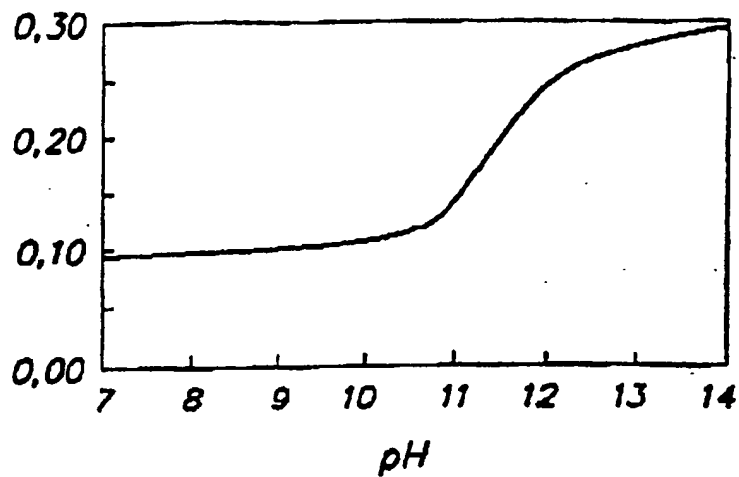
Patentansprüche

1. Sensormembran zur reversiblen optischen Anzeige des pH-Wertes einer Probe, mit einem mechanisch stabilen Träger-
element und einer darauf angebrachten Indikator-Farb-
10 stoffschicht, dadurch gekennzeichnet,
daß auf mindestens einer Seite des Trägerelementes eine
hydrophile Aufnahmeschicht angeordnet ist, welche den In-
dikator-Farbstoff in immobilisierter Form aufweist.
- 15 2. Sensormembran nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
daß die Aufnahmeschicht eine Dicke im Bereich von 0,1 bis
0,5 μm aufweist.
- 20 3. Sensormembran nach den Ansprüchen 1 oder 2, dadurch
gekennzeichnet, daß die Aufnahmeschicht aus Cellulose,
Gelatine, Hydrogel, hydrophilen Polyvinylalkoholen oder
Gemischen dieser Substanzen besteht.
- 25 4. Sensormembran nach einem oder mehreren der Ansprüche 1
bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Aufnahme-
schicht samt Indikator-Farbstoff aufweisende Träger-
element aus hydrophobem, optisch transparentem Material,
vorzugsweise aus der Gruppe: Polyester vom Typ der
Phthalsäureester, Polycarbonate, Polyvinylchloride,
30 Polyamide, Silicone, vernetzte Polyacrylamide, Poly-
vinylalkohole, besteht.

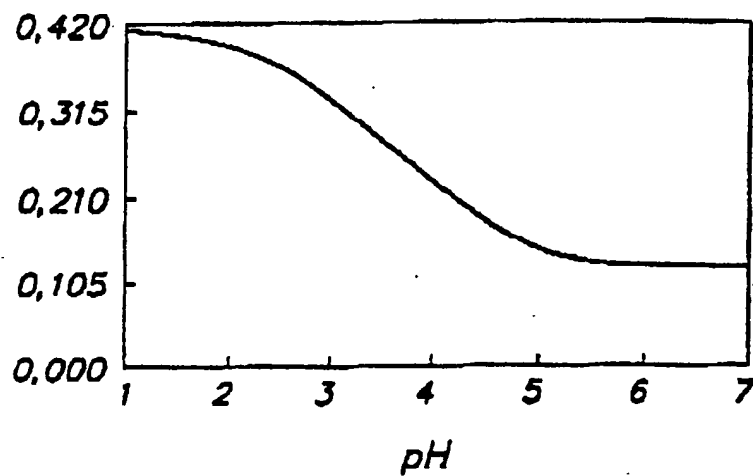




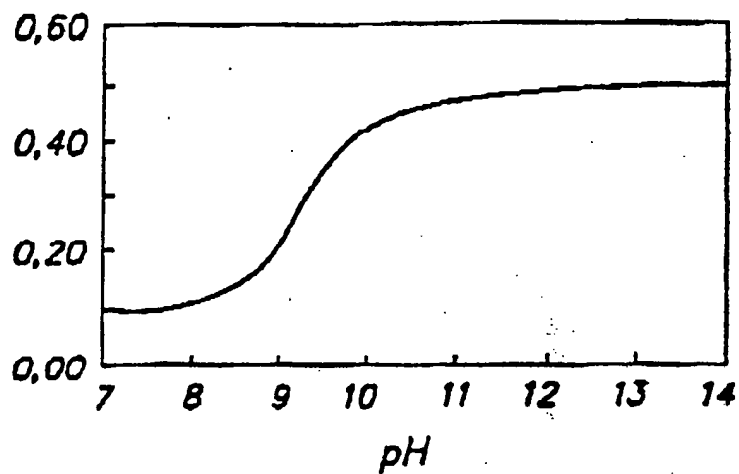
Absorption

Fig. 3

Absorption

Fig. 4

Absorption

Fig. 5

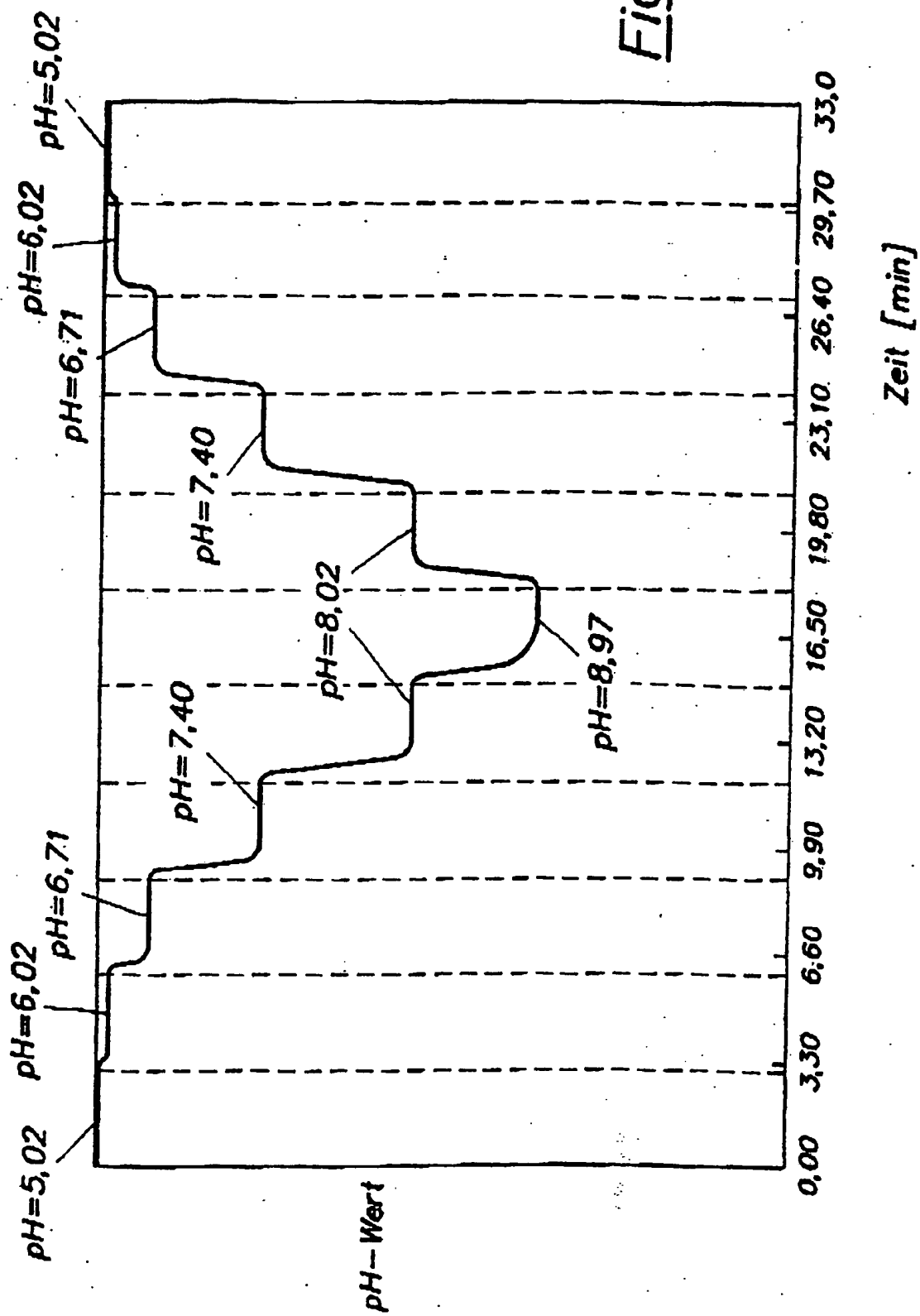
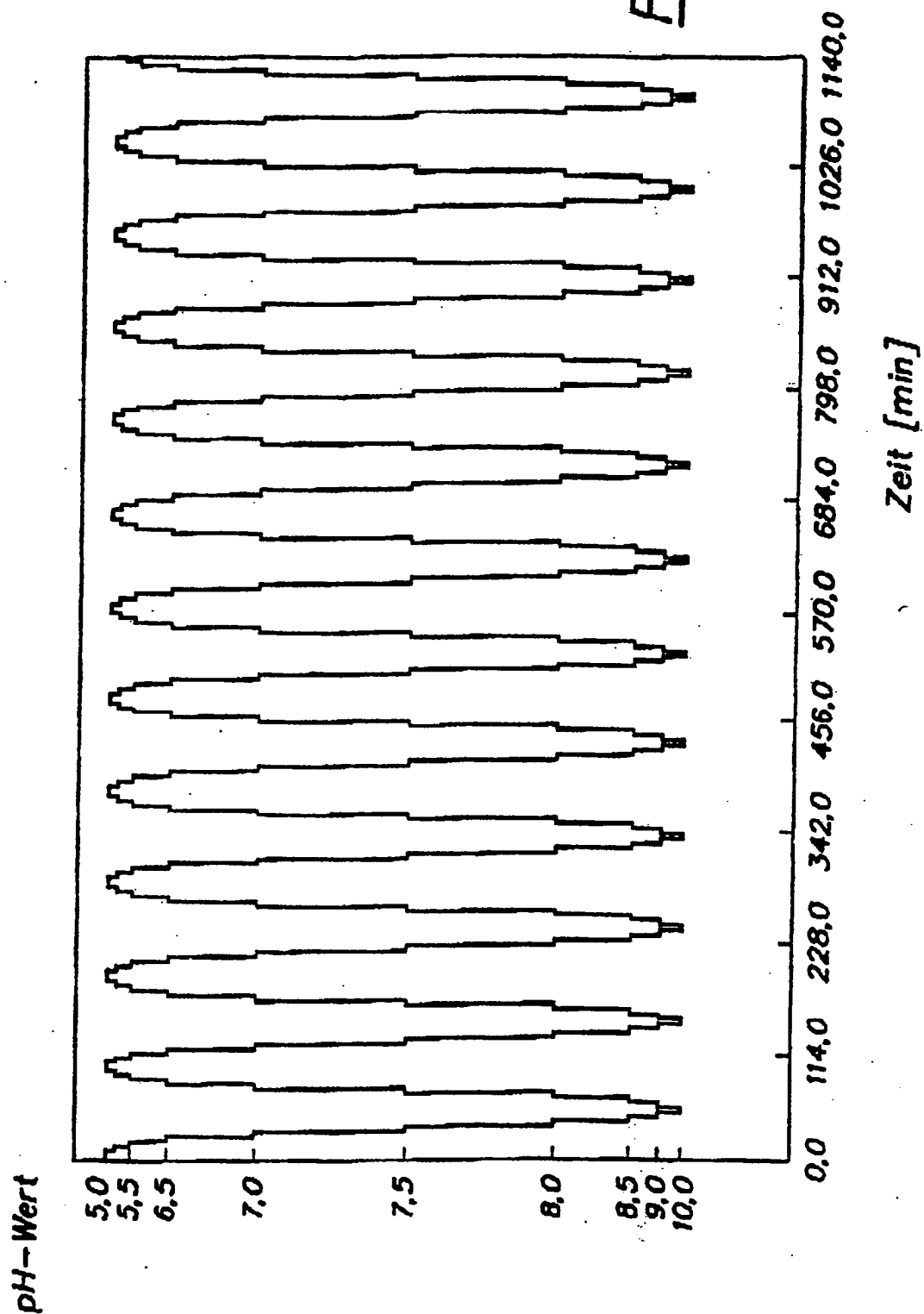


Fig. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 92/02245

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁵ G01N31/22; G01N21/80
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁵ G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US, A, 4965087 (WOLFBEIS) 23 October 1990 see column 2, line 25 - line 29 see column 2, line 47 - line 54 see column 2, before the last line - column 3, line 6 see column 5, line 28 - line 38 see column 8, line 1 - line 11	1,3-6
A	ANALYTICAL CHEMISTRY Vol. 61, No. 3, 1 February 1989, COLUMBUS, US pages 202-205 Z. ZHUJUN ET AL. "Poly(vinyl) alcohol as a substrate for indicator immobilization for fiber-optic chemical sensors" see abstract see page 202, left-hand column, paragraph 1	1,3,5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 December 1992 (21.12.92)

Date of mailing of the international search report

6 January 1993 (06.01.93)

Name and mailing address of the ISA/

EUROPEAN PATENT OFFICE

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 92/02245

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US, A, 4200110 (PETERSON) 29 April 1980 cited in the application see column 3, line 58 - line 67 --	1,5
A	O.S. WOLFBEIS: "Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors" 1991, CRC Press, Boca Raton, US Vol. 1, Chapter 8, pages 359-384 Paragraph II.D: "Dye Immobilization" -----	

I. KLASSEIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Kl. 5 G01N31/22; G01N21/80		
II. RECHIERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	G01N	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ¹⁰	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	US,A,4 965 087 (WOLFBEIS) 23. Oktober 1990 siehe Spalte 2, Zeile 25 - Zeile 29 siehe Spalte 2, Zeile 47 - Zeile 54 siehe Spalte 2, vorletzte Zeile - Spalte 3, Zeile 6 siehe Spalte 5, Zeile 28 - Zeile 38 siehe Spalte 8, Zeile 1 - Zeile 11 ---	1,3-6
A	ANALYTICAL CHEMISTRY Bd. 61, Nr. 3, 1. Februar 1989, COLUMBUS US Seiten 202 - 205 Z. ZHUJUN ET AL 'Poly(vinyl) alcohol as a substrate for indicator immobilization for fiber-optic chemical sensors' siehe Zusammenfassung siehe Seite 202, linke Spalte, Absatz 1 ---	1,3,5
<p>¹⁰ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts	
21.DEZEMBER 1992	06.01.93	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	THOMAS R.M.	

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. EP 9202245
SA 64830**

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 21/12/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4965087	23-10-90	AT-A- 387466	25-01-89
		AT-A- 381592	10-11-86
		DE-A, C 3343636	07-06-84

US-A-4200110	29-04-80	CA-A- 1121242	06-04-82
		DE-A, C 2851138	07-06-79
		FR-A, B 2409743	22-06-79
		GB-A, B 2009394	13-06-79
		JP-C- 1391392	23-07-87
		JP-A- 54085588	07-07-79
		JP-B- 61059727	17-12-86
		NL-A- 7811372	30-05-79

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 9202245
SA 64830

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

21/12/92

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4965087	23-10-90	AT-A- 387466	25-01-89
		AT-A- 381592	10-11-86
		DE-A, C 3343636	07-06-84

US-A-4200110	29-04-80	CA-A- 1121242	06-04-82
		DE-A, C 2851138	07-06-79
		FR-A, B 2409743	22-06-79
		GB-A, B 2009394	13-06-79
		JP-C- 1391392	23-07-87
		JP-A- 54085588	07-07-79
		JP-B- 61059727	17-12-86
NL-A- 7811372	30-05-79		

EPO FORM P0073

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82